DC(No.150317)
体外診断用医薬品

この添付文書をよく読んでから使用してください。

※2014年３月改訂(第2版)
2012年４月全面改訂

CCR4キット

ポテリジオ®テスト　FCM

製造販売承認番号　22400AMX00638000

【重要な基本的注意】

本品は、モガムリズマブ(遺伝子組換え)の適応を判定するための補助に用います。ATLの診断や治療効果の確認を目的とした使用については有効性が確認されていないので、そのような目的で使用しないで下さい。

【全般的な注意】

1. 本品は体外診断用であり、それ以外の目的に使用しないで下さい。
2. 診断は他の関連する検査結果や臨床症状等に基づいて総合的に判断して下さい。
3. 添付文書以外の使用方法については保証を致しません。
4. 本品は、フローサイトメーター用です。フローサイトメーター及びフローサイトメーター用試薬の取扱に習熟した者が使用することを推奨します。ご使用にあたっては、使用する機器の添付文書及び取扱説明書をよく読んでから使用して下さい。
5. 構成試薬1. 及び2. はアジ化ナトリウム(0.1％未満)を含有しております。誤って目や口に入れたり、皮膚に付着した場合は水で十分に洗い流す等の応急措置を行い、必要があれば医師の手当て等を受けて下さい。

【形状・構造等(キットの構成)】

1. 標識抗体
   FITC*標識マウス抗ヒトCCR4**モノクローナル抗体
2. 陰性コントロール
   FITC標識マウスIgG1

*FITC：Fluorescein isothiocyanate
**CCR4：CC Chemokine Receptor 4の略号。CD4陽性タイプⅡヘルパーT細胞に選択的に発現するケモカイン受容体

【使用目的】

血液中の血球細胞表面上に発現するCCR4タンパクの検出(モガムリズマブ(遺伝子組換え)の適応を判定するための補助に用いる)

※【使用目的に関連する使用上の注意】

PTCL、CTCLにおける、モガムリズマブ(遺伝子組換え)の適応を判断するための補助に用いた経験はない。

【測定原理】

本品は、マウス抗ヒトCCR4モノクローナル抗体に蛍光色素フルオレセインを結合させたものです。末梢血液中に含まれる血球細胞表面に存在するCCR4タンパクに対して本品を反応させ、抗原抗体複合体を形成させます。これによって、CCR4発現細胞は蛍光標識化されます。未結合の蛍光標識抗体を洗浄除去して得られる蛍光標識化細胞をフローサイトメーターで測定します。フローサイトメーターを用いて個々の細胞に励起光を照射し、細胞特性(サイズ、内部構造)に応じた強度の散乱光(サイズを反映した前方散乱光、内部構造を反映した側方散乱光)、及びCCR4発現細胞に結合した蛍光色素量に依存した蛍光を測定します。個々の細胞の散乱光量を2次元ドットプロット上で展開して、ある細胞特性をもった細胞集団のみに限定し、次いでその細胞集団の蛍光色素量を1次元ヒストグラム又は2次元ドットプロットにて解析することによってCCR4タンパクを検出します。
本品の代わりに、蛍光標識抗体と同じアイソタイプである陰性コントロール(FITC標識マウスIgG1)を反応させたものも同様に測定し、上記で設定した同じ細胞集団の蛍光色素量を1次元ヒストグラムにて解析します。蛍光標識抗体(マウス抗ヒトCCR4モノクローナル抗体)と陰性コントロール(FITC標識マウスIgG1)との差が蛍光標識抗体の特異的結合を表します。

【操作上の注意】

1. 測定試料の性質、採取法

(1)検体は採血後速やかに測定することが望ましいですが、すぐに測定できない場合は、検体は室温(15～30℃)に保管して下さい。40℃以上の保管は検体が劣化する恐れがあるため避けて下さい。採血後48時間以内に測定することが望ましいですが、遅くとも採血後72時間以内に測定を行って下さい。
(2)採血管は抗凝固剤(ヘパリン)の入った採血管をご使用下さい。
(3)フローサイトメーターによる測定が直ちに実施できない場合は、標識抗体との反応が終了した細胞を遮光して冷蔵で保存して下さい。ただし、その場合、遅くとも測定操作手順⑷を終了後4時間以内でフローサイトメーターによる測定を行って下さい。
(4)検体中のCCR4陽性細胞が異常に多い場合は、抗体反応細胞の細胞数が3×10^6個以下となるように測定操作手順(1)における採血管からの採取量を少なくして操作を実施して下さい。

(5)検体中の白血球数が少ない場合には、データの判定が困難になる場合があります。その場合には正しい判定を行うために、測定操作手順(1)における採血管からの採取量を多くして操作を実施して下さい。
(6)赤血球溶血処理が過剰な場合は、測定すべき細胞も破壊される恐れがあるため、処理時間等を厳密に守って下さい。
(7)部分的な凝固塊が認められる場合、特定の細胞集団が選択的に損失又は変性を起こしている可能性があるため使用しないで下さい[1)]。
(8)細胞の損失を少なくするため、試験管は細胞用のものを使用することを推奨します。
(9)細胞を懸濁するときはできるだけ泡立てないようにほぐして下さい。

2. 妨害物質

(1)既に溶血している検体の使用は避けて下さい。
(2)測定操作手順(1)及び(2)における細胞洗浄操作が不完全な場合、検体中の血清免疫グロブリン及び可溶性抗原等により標識抗体の反応に影響を及ぼす可能性がありますので、細胞洗浄操作は適切に実施して下さい。特に自己抗体等の血清免疫グロブリンが多量に含まれる検体では注意して操作を実施して下さい。
(3)本品の第一抗体は、CCR4以外の他のケモカインレセプターファミリーとは交差反応性を示さないことを確認しています。

3. その他

(1)蛍光物質は光に当てると蛍光が減衰するため、標識抗体及び陰性コントロールの保管又は反応の際にはアルミホイルで周りを包む等して、遮光状態を保って下さい。
(2)フローサイトメーターは検出感度及び蛍光補正(コンペンセーション)が適正になるようにリファレンスビーズ等を使用して調整後に使用して下さい。フローサイトメーターの調整不良、感度及びゲート等の不適切な設定により、誤った結果が得られる場合があります。リファレンスビーズはフローサイトメーター専用のものを使用して下さい。
(3)サンプル調製方法や試薬、フローサイトメーターの機種や測定条件等の違いにより測定値が影響を受ける恐れがあるため、陽性領域の基準及びゲーティング等の設定は施設ごとに設定して下さい。
(4)試薬は秤取量が少ないため、分注の際は試験管壁に伝わらせて確実に添加して下さい。
(5)試薬の汚染を防ぐため、マイクロピペットのチップは試薬ごとに取り替えて下さい。
(6)多重染色によるマルチカラー解析を実施する場合、正確な解析のためには各抗体を標識する蛍光色素の選択、蛍光補正(コンペンセーション)の適切な実施が必要であるため、この技法に習熟した者が実施することが必要です。

【用法・用量(操作方法)】

構成試薬はそのまま使用して下さい。
構成試薬は使用前に常温(15～25℃)に戻して下さい。
構成試薬は至適濃度に調製されているので、使用の際は希釈をしないで下さい。

1. 試薬の調製法

(1)細胞浮遊液
リン酸緩衝生理食塩水(PBS)1Lにアジ化ナトリウム0.9g及び牛胎児血清(FCS)20mLを添加して、よく混和して下さい。
保存条件：冷蔵(2～8℃)
(2)赤血球溶血剤
塩化アンモニウム8.26g、炭酸水素カリウム1.0g、EDTA・4ナトリウム37mgを精製水約0.9Lに溶解し、1Lにメスアップして下さい。
保存条件：冷蔵(2～8℃)
(3)アジ化ナトリウム含有正常ウサギ血清
100mLの正常ウサギ血清にアジ化ナトリウム0.09gを添加して下さい。
保存条件：冷蔵(2～8℃)

2. その他必要な器具、器材、試薬等

- PBS
- FCS
- 塩化アンモニウム
- 炭酸水素カリウム
- EDTA-4ナトリウム
- アジ化ナトリウム
- 正常ウサギ血清
- 精製水
- 抗凝固剤(ヘパリン)入り採血管
- マイクロピペット、パスツールピペット、ピペット
- アスピレーター
- 反応用試験管(ディスポーザブル型)
- フローサイトメーター用の試験管
- Vortexミキサー
- 血球計算盤
- リファレンスビーズ
- 遠心機
- 試験管
- アルミホイル等遮光できるもの
- サブセット解析用マーカーの蛍光標識抗体(蛍光標識抗ヒトCD4抗体等)
- 7-aminoactinomycin D(7-AAD)

3. 測定操作手順

検体測定の際には、必ず盲検をおいて測定操作を並行して実施して下さい。
＜検体が全血の場合＞
(1)採血管を5回程度転倒混和後、ピペットで2mLを試験管へ分注し、10mLの細胞浮遊液を添加して遠心(室温(20～30℃)、400×g、5分間)します。以下の操作手順における遠心操作はすべて同じ条件で実施して下さい。
(2)アスピレーターで上清を吸引除去し、再度10mLの細胞浮遊液を添加して遠心します。
(3)最初の分注量(約2mL)が残るようにアスピレーターで、上清を吸引します。

(4)手順(3)の試験管にアジ化ナトリウム含有正常ウサギ血清を0.2mL添加後、冷蔵(2～8℃)で5分間静置し、細胞懸濁液を作製します。
(5)20μLの標識抗体(試験管A)又は陰性コントロール(試験管B：盲検)をそれぞれの反応用試験管にマイクロピペットで採取します。
(6)サブセット解析用マーカーの蛍光標識抗体を手順(5)の反応用試験管に添加します。
(7)手順(5)、(6)のすべての標識抗体又は陰性コントロール、サブセット解析用マーカーを添加してもなお抗体液総量が90μLに満たない場合は、総量が90μLになるように、細胞浮遊液を手順(5)の反応用試験管に添加します。
(8)手順(4)の細胞をよく攪拌してから、その細胞懸濁液を手順(7)の反応用試験管にマイクロピペットを用いて110μLずつ分注して更に攪拌します。

	試験管A	試験管B (盲検)
細胞懸濁液	110μL	110μL
標識抗体	20μL	-
陰性コントロール	-	20μL
サブセット解析用マーカーの蛍光標識抗体	XμL	XμL
全量	200μL	200μL

(9)冷蔵(2～8℃)でインキューベート(60分間、静置)します。
(10)攪拌後、赤血球溶血剤を添加(4mL)します。
(11)室温(20～30℃)で10分間静置後、遠心します。
(12)アスピレーターで上清を吸引除去し、すぐに再度4mLの赤血球溶血剤を添加し、攪拌後遠心します。
(13)アスピレーターで上清を吸引除去し、すぐに4mLの細胞浮遊液を添加し、攪拌後遠心します。
(14)アスピレーターで上清を吸引除去後、ペレットになった細胞に0.5mLの細胞浮遊液を添加して再浮遊し、フローサイトメーター用の試験管に移します。
(15)フローサイトメーターで測定します。

＜管理検体の場合＞

(1)ピペットで必要数の細胞を試験管へ分注し、5～10mLの細胞浮遊液を添加して遠心(室温(20～30℃)、400×g、5分間)します。以下の操作手順における遠心操作はすべて同じ条件で実施して下さい。
(2)アスピレーターで上清を吸引除去し、10mL以上の細胞浮遊液を添加して細胞数を計測後、遠心します。
(3)アスピレーターで上清を吸引した後、細胞数が1～5×10^6個／mLとなるように細胞浮遊液を添加します。
(4)手順(3)で添加した細胞浮遊液の1/10容量のアジ化ナトリウム含有正常ウサギ血清を手順(3)の試験管に添加後、冷蔵(2～8℃)で5分間静置し、細胞懸濁液を作製します。
(5)20μLの標識抗体(試験管A)又は陰性コントロール(試験管B：盲検)をそれぞれの反応用試験管にマイクロピペットで採取します。
(6)70μLの細胞浮遊液を手順(5)の反応用試験管に添加します。
(7)手順(4)の細胞をよく攪拌してから、その細胞懸濁液を手順(6)の反応用試験管にマイクロピペットを用いて110μLずつ分注して更に攪拌します。

	試験管A	試験管B (盲検)
細胞懸濁液	110μL	110μL
標識抗体	20μL	-
陰性コントロール	-	20μL
細胞浮遊液	70μL	70μL
全量	200μL	200μL

(8)冷蔵(2～8℃)でインキューベート(60分間、静置)します。
(9)攪拌後、1mLの細胞浮遊液を添加し、攪拌後遠心します。
(10)アスピレーターで上清を吸引除去後、ペレットになった細胞に50～500ng/mLの7-AADを含有した細胞浮遊液0.4mLを添加して再浮遊し、フローサイトメーター用の試験管に移します。
(11)フローサイトメーターで測定します。

【測定結果の判定法】

1. ゲート及び陽性領域の設定方法

フローサイトメーターで蛍光標識化細胞を測定する場合は、各々のフローサイトメーターの取扱説明書に従い操作して下さい。

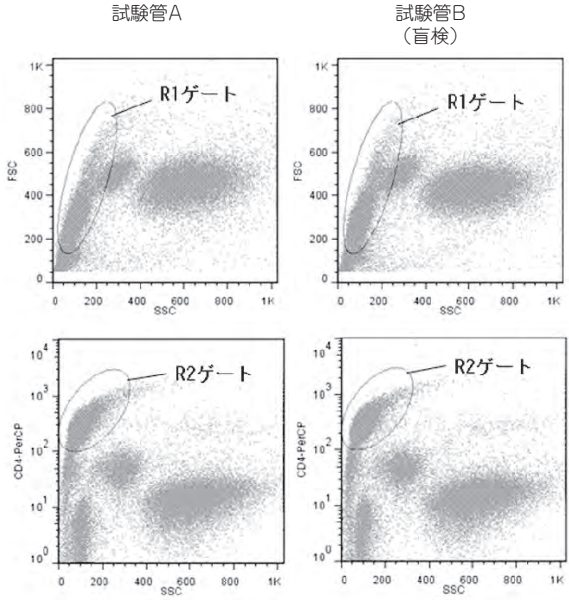
＜検体が全血の場合＞

(1)試験管A及び試験管B(盲検)の各データにおいてFSC(前方散乱光)とSSC(側方散乱光)の2パラメーター・ドットプロットを表示し、単球、顆粒球等のリンパ球以外の細胞及び残さのゲート内への混入をできるだけ避け、かつできる限り検体中のすべてのリンパ球が含まれるように適切なリンパ球ゲート(R1ゲートとします)を設定します。

(2)サブセット解析用マーカーとSSC(側方散乱光)の2パラメーター・ドットプロットを表示し、解析対象とするサブセットに対してゲート(R2ゲートとします)を適切に設定します。ATL細胞はほとんどの場合CD4陽性であることが知られているため、サブセット解析用マーカーとしてCD4を推奨します。

(3)試験管B(盲検)のデータにおいて、R1ゲートかつR2ゲートに含まれる細胞(サブセット解析マーカーをCD4とした場合にはCD4陽性リンパ球となります)を対象として、CCR4の蛍光ヒストグラムを表示し、ヒストグラムのピークの端(テール部分)にかかるように陽性領域を設定します。

(4)FITC以外の蛍光色素(例えば、PE等)で標識した抗体は本品と同時に使用することができます。



＜管理検体の場合＞

(1)試験管A及び試験管B(盲検)の各データにおいてSSC(側方散乱光)と7-AADの2パラメーター・ドットプロットを表示して、7-AAD陰性領域に対してゲート(R3ゲートとします)を適切に設定します。

(2)試験管A及び試験管B(盲検)のデータにおいて、R3ゲートに含まれる細胞を対象として、CCR4の蛍光ヒストグラムを表示します。

2. 陽性率及び平均蛍光強度(MFI；mean fluorescence intensity)の算出方法

＜検体が全血の場合＞

上記(3)で設定した陽性領域を試験管Aのデータに適用して陽性領域内の細胞数を計測し、R1ゲートかつR2ゲートに含まれる全細胞総数中の割合(%)を算出します。

＜管理検体の場合＞

試験管A及び試験管B(盲検)のCCR4ヒストグラムのMFIを求め、それぞれ陽性MFI、陰性MFIとします。

3. データの評価方法

＜検体が全血の場合＞

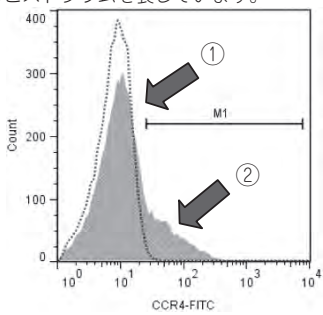
下表に従って陽性又は陰性の判定を実施します。

陽性	健常者におけるCCR4発現状態と比較して、明らかな発現強度の上昇又は陽性細胞の増加がある
陰性	健常者におけるCCR4発現状態と比較して、同様のCCR4発現状態である

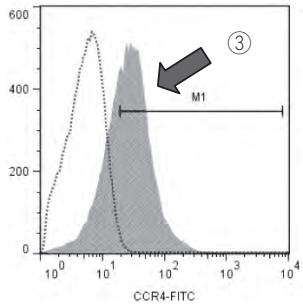
ただし、判定において主にCCR4のヒストグラム又はドットプロットを使用し、陽性率の数値は判定の際の参考とします。

CCR4のヒストグラムを使用してCD4陽性のATL細胞集団を解析する場合に、下記の健常者及びATL患者におけるCCR4発現状態の例を参照し、データ中にATL細胞集団が認められる場合、当該細胞集団の発現強度を陰性コントロールと比較することによって判定を実施して下さい。なお、下記の例において、塗りつぶし部分はCCR4のヒストグラムを、点線は陰性コントロール(盲検)のヒストグラムを表しています。

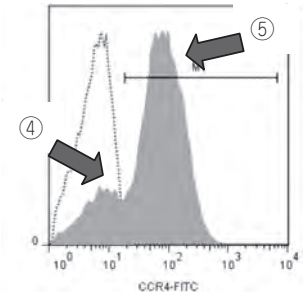
(1)健常者におけるCCR4発現状態…健常者のCCR4のヒストグラムにおける第1の特徴は、主要なピーク(グレーの塗りつぶし)が、陰性コントロール(点線)とほぼ重なる点です(右図の①)。陰性コントロール(点線)と重なることから、ここで観察された蛍光強度は標識抗体の特異的な結合によって生じたものではないと解釈でき、したがって主要なピークはCCR4陰性細胞集団と同定されます。第2の特徴は、陰性コントロールよりも少し強い蛍光強度を示す細胞集団(CCR4陽性細胞集団)がヒストグラム上で主要ピーク(CCR4陰性細胞集団)の右裾に認められることです(右図の②)。ここで観察された蛍光強度は標識抗体の特異的な結合によって生じたものと解釈でき、したがって右裾の細胞集団はCCR4陽性細胞集団と同定されます。



(2)ATLにおけるCCR4発現状態の例1…ATLのCCR4のヒストグラムにおける特徴は、主要なピーク(グレーの塗りつぶし)が、陰性コントロール(点線)より右にシフトしている点です(右図③)。
フローサイトメトリーデータ上は、健常者症例と比較して主要ピークのシフト、すなわちCCR4陽性細胞の増加が顕著であると認められ、判定基準に照らして「陽性」と判定されます。



(3)ATLにおけるCCR4発現状態の例2…例2では、CCR4のヒストグラムにおいて陰性コントロール(点線)と同等の発現強度を示す左側のピーク(右図④)と陰性コントロール(点線)より強い発現強度を示す右側のピーク(右図⑤)の2本のピークが認められます。
例2においても、例1同様、CCR4のヒストグラムでは陰性コントロール(点線)より右にシフトしていることより、検体中のATL細胞はCCR4陽性と認めることができます。したがって、例2の場合も判定基準に照らして「陽性」と判定されます。



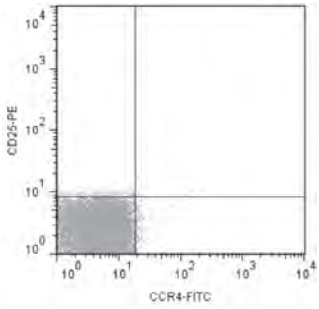
＜管理検体の場合＞
陽性MFI及び陰性MFIから次式によってS/N比を計算し、陽性又は陰性を判定します。

S/N比＝(陽性MFI)／(陰性MFI)

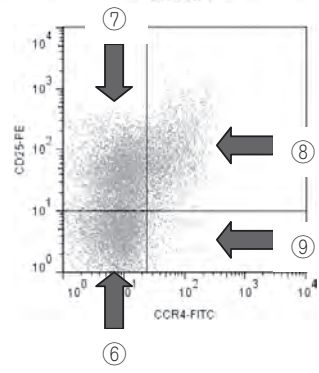
判定	S/N比
陰性	1.4未満
陽性	1.4以上

参考データ：CCR4とCD25の2次元ドットプロット

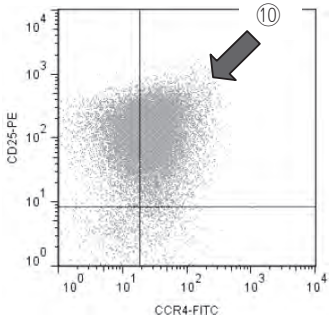
●CD4陽性のATL細胞集団の同定を容易にする方法として、CCR4とCD25の多重染色によるドットプロット解析が用いられることがあります。CCR4とCD25の多重染色によるドットプロット解析を行う場合は、各標識抗体に対応する陰性コントロールを反応させた盲検を事前に測定し、CCR4陽性CD25陰性領域、CCR4陰性CD25陽性領域へのドットの取り込みが、できるだけ1％未満になるように適切な位置に4分割(右図)を設定して下さい。
●FITC以外の蛍光色素(例えば、PE、PerCP、PE-Cy5、PE-Cy7等)で標識した抗体は本品と同時に使用することができます。以下のフローサイトメトリーデータでは、CD25抗体の標識としてPEを、CD4抗体の標識としてPerCPを用いた解析例を示します。



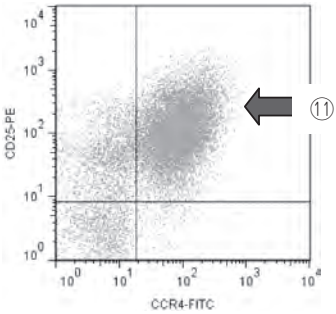
・CCR4のドットプロットを使用してCD4陽性のATL細胞集団を解析する場合に、下記の健常者及びATL患者におけるCCR4発現状態の例を参照し、データ中にATL細胞集団が認められる場合、当該細胞集団の発現強度を陰性コントロールと比較することによって判定を実施して下さい。なお、下記の例では、CCR4を横軸、CD25を縦軸とした2パラメーター・ドットプロットを表しています。
・健常者におけるCCR4発現状態…健常者のCCR4/CD25の2次元ドットプロットにおける第1の特徴は、CCR4のヒストグラムの主要なピークであるCCR4陰性細胞集団(3. データの評価方法の「(1)健常者におけるCCR4発現状態」の図中①に相当します)がCD25陰性細胞(右図の⑥)とCD25陽性細胞(右図の⑦)から構成されていることです。第2の特徴は、CCR4陽性CD25陽性領域(右図の⑧)の細胞数は少なく、CCR4陽性CD25陰性領域(右図の⑨)には細胞はほとんど認められないことです。



・ATLにおけるCCR4発現状態の例1…ATLのCCR4/CD25の2次元ドットプロットにおける特徴は、ATL細胞がクローン性に増殖した結果とみられる均一な細胞集団が認められる点です(右図⑩)。CCR4陰性CD25陰性領域(4分割の左下)の領域の細胞集団の比率は相対的に低くなっており、ほとんど認められません。CCR4/CD25の2次元ドットプロットにおいて観察された均一な細胞集団が、健常者のデータで認められた主要な細胞集団(上記の「健常者におけるCCR4発現状態」の図中⑥及び⑦に相当します)より右にシフトしていることより、検体中のATL細胞はCCR4陽性と認めることができます。フローサイトメトリーデータ上は、健常者症例と比較して主要ピークのシフト、すなわちCCR4陽性細胞の増加が顕著であると認められ、判定基準に照らして「陽性」と判定されます。



・ATLにおけるCCR4発現状態の例2…例2のCCR4/CD25の2次元ドットプロットでは、ATL細胞がクローン性に増殖した結果とみられる均一な細胞集団が認められます(右図⑪)。例2においても、例1同様、CCR4/CD25の2次元ドットプロットにおいて観察された均一な細胞集団(右図⑪)が、健常者のデータで認められた主要な細胞集団(上記の「健常者におけるCCR4発現状態」の図中⑥及び⑦に相当します)より右にシフトしていることより、検体中のATL細胞はCCR4陽性と認めることができます。したがって、例2の場合も判定基準に照らして「陽性」と判定されます。



4. 判定上の注意

(1)「ポテリジオ®点滴静注20mg」を投薬された患者の検体を用いて本品を使用した場合に正しい結果が得られない場合がありますのでご注意下さい。

(2)陽性率の数値では細胞上の抗原分子の発現状態を正しく表現できないこともあるので[1)]、陽性率の数値のみで結果を判定しないで下さい。陽性領域にはATL細胞以外にも正常血液細胞も含まれており、又蛍光強度が弱い場合には陽性細胞の一部が偽陰性となることが考えられるため、陽性率が真の陽性率とは異なる場合があります[1)]。

(3)ATL細胞が末梢血中に存在することが明確ではない症例の検体では、正確な判定ができない場合があるので検体として使用することは好ましくありません。末梢血単核球細胞の形態観察等他の測定によりATL細胞が末梢血中に存在することを確認した検体を使用することを推奨します。

(4)本品の測定結果の判定にあたっては、造血器腫瘍に対して専門の知識を有するフローサイトメトリー専門家による判定を推奨いたします。なお判定が困難な例についてはCCR4のFCMデータのみで安易に判定せず、血球数・血液像(白血球分画)やCCR4以外のFCMデータ等も参照して総合的に判断する必要があります。又必要に応じて他の専門家に相談する等、慎重に判定を実施して下さい。本品の判定基準はCCR4の発現について検討するためのものであるため、「ポテリジオ®」の投薬の判断は臨床症状や他の検査結果等を考慮して総合的に判断して下さい。

(5)ゲートや陽性領域の設定は検体ごとに適切に設定して下さい。CCR4の発現を判断する上ですべての検体に対して画一的なゲートや陽性領域を設定することは誤った判定を生じる可能性があります[1)]。

(6)ゲートを設定する際には、測定対象となる細胞分画のみに正しくゲートがかかるように設定して下さい。

(7)測定細胞数(フローサイトメーターの取り込み細胞数)は、検体中の細胞数、解析対象細胞の割合、データの解析方法、保存データの容量等を考慮して適切に設定して下さい。特に解析ゲートを満たす解析対象細胞数が少ない場合には、ピークの形状やドットパターンが不明瞭となり正しい判定が実施できない場合があります。解析ゲートを満たす解析対象細胞数が十分な数になるように細胞数を設定して下さい[1)]。

(8)死細胞は細胞膜の透過性が亢進して細胞膜内まで抗体が侵入し、かつ非特異に染色されるので偽陽性となる場合が多くあります。CCR4と他の表面マーカーによる測定を同時に実施する場合は、2種類の蛍光による2次元ドットプロット上で対角線上に細胞集団が出現する等典型的なパターンで判別することも可能です。

(9)検体中に非特異反応物質(例えば自己抗体、等)が存在した場合、得られた結果に対して、非特異反応を完全に否定することができない場合があります。

(10)本製品による結果は、検体の採取や保存の方法・採取後の時間経過、あるいはサンプル調製方法によって影響を受けることがあるため、独自に健常者検体を測定しその基準範囲を設定して下さい。

(11)再解析に備えて、リストモードデータを保存することを推奨します。

【臨床的意義】

CCR4は、遊走因子であるMacrophage-derived chemokine(MDC)やThymus and activation-regulated chemokine(TARC)をリガンドとする7回膜貫通型のタンパクで、CD4陽性タイプⅡヘルパーT細胞に選択的に発現することが知られています[2)]。
CCR4は、成人T細胞白血病リンパ腫(ATL)患者の88.3%に発現していること及びCCR4の発現がATLの独立した予後不良因子であることが見出されました[3)]。この結果に基づいて、CCR4タンパクを標的とした薬剤の開発が進められ、CCR4に対するヒト化モノクローナル抗体製剤「ポテリジオ®」が創製されました。
「ポテリジオ®」の国内第Ⅱ相臨床試験(CCR4陽性の再発・再燃したATL患者を対象に実施した第Ⅱ相臨床試験)では、50.0%(13/26例)の奏効率[4)]が認められ、「ポテリジオ®点滴静注20mg」使用にあたっては、患者の腫瘍細胞がCCR4陽性であることを確認することが必要とされております[4)]。なお、「ポテリジオ®点滴静注20mg」は、再発又は難治性のATLにおいて高い有効性が期待されております。
なお、国内第Ⅱ相臨床試験ではCCR4発現確認検査が44例の被験者に実施され、CCR4陽性率は100.0% (44/44例)でした。フローサイトメトリー (以下、FCMと略します)が実施された被験者は24例、免疫組織化学染色(以下、IHCと略します)が実施された被験者は25例で、これらのうち5例はFCM及びIHCの両方が実施されました。FCM及びIHCの両方が実施された5例の被験者のうち1例は両方陽性となりましたが、残り4例は、FCM又はIHCのいずれかの結果が腫瘍細胞の数が少ない等の理由により「判定不能」となったものの(FCM:3症例、IHC:1症例)、もう一方の検査の判定結果は4例とも「陽性」となりました。すなわち検査別の陽性率(判定不能症例を含む)は、FCMが87.5%(21/24例)、IHCが96.0%(24/25例)となりました。
本品の国内における臨床性能試験は2010年から2011年にかけて実施され、ATL患者検体(25検体)及び対照者検体(25検体)について、「ポテリジオ®」の国内第Ⅱ相臨床試験で実施されたFCM法と本品での測定結果を比較したところ、100%の完全一致を示し、本品がCCR4タンパク検出キットとして有用であることが示唆されました。

【性能】

【用法・用量(操作方法)】欄に従って操作し、下記の各試験を行うとき、次の規格に適合しました。
(1)感度試験
陽性管理検体を測定するとき、陽性と判定されます。
(2)正確性試験
陽性管理検体を測定する場合は陽性、陰性管理検体を測定する場合は陰性と判定されます。
(3)同時再現性試験
陽性管理検体を3回同時に測定するとき、全ての検体は陽性と判定されます。陰性管理検体を3回同時に測定するとき、全ての検体は陰性と判定されます。

陽性管理検体は、あらかじめCCR4タンパクの発現のあることを確認している細胞です。
陰性管理検体は、あらかじめCCR4タンパクの発現が検出限界以下であることを確認している細胞です。

	名称	由来
陽性管理検体	HH	ヒト皮膚T細胞リンパ腫(Cutaneous T cell lymphoma)細胞株
陰性管理検体	SR	ヒトALK陽性未分化大細胞リンパ腫(Anaplastic large cell lymphoma)細胞株

【使用上又は取扱い上の注意】

1. 取扱い上(危険防止)の注意
(1)検体はHBV、HCV、HIV、HTLV-1等による感染の危険性があります。検体の取扱いには、使い捨て手袋・実験着・保護用眼鏡等を着用し、感染防止のため人体に直接触れないように注意して下さい。測定後はよく手を洗って下さい。
(2)検体及び試薬を扱う場合には、口によるピペッティングを行わないで下さい。
(3)構成試薬(1、2)はアジ化ナトリウム(0.1%未満)を含有しております。これらを含むすべての試薬について誤って目や口に入れたり、皮膚に付着した場合は水で十分に洗い流す等の応急措置を行い、必要があれば医師の手当て等を受けて下さい。
(4)試薬及び検体をこぼした場合は、80%アルコールスプレー等の消毒薬を使用し十分に拭き取って下さい。なお、拭き取る際にはゴム製手袋等により手を保護して下さい。
(5)本品及び検体を取り扱う場所では飲食又は喫煙をしないで下さい。
(6)7-AADは高濃度では発がん性のあることが知られています。この物質を取り扱う際には、化学物質安全性データシート(MSDS)を参照し、取扱説明書に従い取り扱って下さい。

2. 使用上の注意
(1)使用期限を過ぎた試薬は使用しないで下さい。
(2)製造番号の異なる試薬や他社製品を混ぜて使用しないで下さい。
(3)同一ロットの試薬であっても試薬を継ぎ足して使用しないで下さい。
(4)試薬の外観に異常がある場合は使用しないで下さい。
(5)本品はフローサイトメーター専用試薬です。蛍光顕微鏡には使用できません。
(6)試薬が微生物に汚染されないよう注意して下さい。
(7)本品は凍結を避け、貯蔵方法に従い保存して下さい。凍結させた試薬は品質が変化して正しい結果が得られないことがありますので使用しないで下さい。

(8)未開封の試薬は、遮光、冷蔵(2～8℃)で保存した場合に各バイアルに明記してある有効期限まで使用できます。
(9)本品は開封後、遮光、冷蔵(2～8℃)で保存して下さい。
(10)保管やインキュベーション中に試薬を強い光にさらさないで下さい。
(11)本製品は、既に至適濃度に調製されているので、使用の際は希釈しないで下さい。
(12)包装が破損、汚染している場合や、製品に異常が認められる場合は使用しないで下さい。
(13)器具類に残留した洗剤は反応に影響を与えるので十分水洗して下さい。

3. 廃棄上の注意

(1)検体にはHBV、HCV、HIV、HTLV-1等の感染性のものが存在する場合がありますので、使用した器具、廃液等は次のいずれかの方法で処理するか、各施設の感染性医療廃棄物処理マニュアルに従って処理して下さい。
1)オートクレーブにより121℃で20分以上滅菌処理すること。ただし、次亜塩素酸ナトリウム溶液を含む廃棄物は、オートクレーブにかけないこと。
2)次亜塩素酸ナトリウム溶液(有効塩素濃度1000ppm)又はグルタルアルデヒド(2%)に1時間以上浸漬し消毒処理すること。
(2)試薬及び器具等を廃棄する場合には、廃棄物の処理及び清掃に関する法律、水質汚濁防止法等の規定に従って処理して下さい。
(3)構成試薬(1、2)はアジ化ナトリウム(0.1%未満)を含有しております。又、細胞浮遊液及びアジ化ナトリウム含有正常ウサギ血清にもアジ化ナトリウムが含まれております。アジ化ナトリウムは鉛管、銅管と反応して爆発性の強い金属アジドを生成することがありますので、試薬廃棄の際には排水管に残留しないよう十分量の水で希釈して洗い流して下さい。
(4)廃棄処理中に試薬が飛散した場合は、水で希釈してから拭き取って下さい。又検体が飛散した場合は、80%アルコールスプレー等を使用して十分に拭き取って下さい。なお、拭き取る際にはゴム製手袋等により手を保護して下さい。
(5)本品中の容器等は他の目的に転用しないで下さい。

【貯蔵方法・有効期間】

1. 貯蔵方法：2～8℃に保存(冷暗所に保存し、凍結は絶対に避けて下さい。)
2. 有効期間：13ヵ月(使用期限は外箱に記載)

【包装単位】

試薬名	包装単位	商品コード
ポテリジオ®テスト　FCM	10回用	58691-3

【主要文献】

1)日本臨床検査標準協議会　血液検査標準化検討委員会　フローサイトメトリーワーキンググループ. Ⅰ. フローサイトメトリーによる造血器腫瘍細胞表面抗原検査に関するガイドライン(JCCLS H2-P V1.0). 日本臨床検査標準協議会会誌 2003；18(2)：69-107
2)Bonecchi R, Bianchi G, Bordignon PP, D'Ambrosio D, Lang R, Borsatti A, et al. Differential expression of chemokine receptors and chemotactic responsiveness of type 1 T helper cells(Th1s) and Th2s. J Exp Med. 1988；187(1)：129-34.
3)Ishida T, Utsunomiya A, Iida S, Inagaki H, Takatsuka Y, Kusumoto S, et al. Clinical significance of CCR4 expression in adult T-cell leukemia/lymphoma：its close association with skin involvement and unfavorable outcome. Clin Cancer Res. 2003；9：3625-34.
4)ポテリジオ®点滴静注20mg添付文書

【問い合わせ先】

協和メデックス株式会社　学術担当
〒104-6004　東京都中央区晴海 1-8-10
ダイヤルイン 03-6219-7608

製造販売元
協和メデックス株式会社
東京都中央区晴海 1-8-10